

## **A MAGYAR HALSZAPORÍTÁS TECHNOLÓGIAI KUTATÁSOK SAROKKÖVEI ÉS EGY ÚJ INDUKÁLT SZAPORÍTÁSI MÓD BEMUTATÁSA**

MÜLLER TAMÁS – KUCSKA BALÁZS – SZABÓ TAMÁS – HORVÁTH LÁSZLÓ – HORVÁTH  
ÁKOS – ITTÉZS ISTVÁN – HAVASI MÁTÉ – URBÁNYI BÉLA

### **ÖSSZEFOGLALÁS**

A szerzők áttekintést adnak a magyar technológiai kutatások XIX. vége és XX sz. közötti időszakban elért nagyhatású eredményeiről. Kitérnek a gyakorlatban még el nem terjedt, kísérleti szintű kutatásokra is. A kézirat második felében egy új halszaporítási módszer kerül bemutatásra, melynek alapja, hogy a spermium sejtek biológiai aktivitásukat megtartva hosszabb ideig „tárolhatóak” petefészkekben indukált szaporítás (szaporodás) előtt valódi külső megtermékenyítésű halakban. A sperma petefészkek mosás/inszeminációval történő szaporítás fiziológiai, technológiai jellegzeteségeit foglaljuk össze, valamint vázoljuk, hogy milyen halszaporítási területen lehet a módszer előnyeit használni.

### **SUMMARY**

*Müller, T. – Kucska, B. – Szabó, T. – Horváth, L. – Horváth, Á. – Ittész, I. – Havasi, M. – Urbányi, B.:* MILESTONES OF HUNGARIAN FISH REPRODUCTION TECHNOLOGY RESEARCH AND INTRODUCTION OF A NEW INDUCED REPRODUCTION METHOD

In their literature review, the authors provide an overview of milestones of Hungarian fish reproduction technology research between XIX and XX centuries. The description also covers the researches at experimental level, which have not yet applied in practice. In the second half of the manuscript, a new method of fish reproduction is presented. The base of this method is that biological activity of spermatozoa can be maintained among ovarian condition of external fertilized fish species for longer time under induced reproduction (or spawning). The physiological and technological characteristics of sperm ovarian lavage / insemination propagation has been summarized, focusing on that fish breeding field and its the advantages of the method.

## BEVEZETÉS

A XXI. századi társadalmi igények között kiemelt szerep jut a Föld folyamatosan növekvő lakosság megfelelő élelmiszer-ellátásának. Ebben a témakörben a vizek megújuló természeti erőforrása, a halállományok hasznosítása fontos szerepet játszik. Az elmúlt évtizedekben a tengerek és óceánok túlhalászata aggasztó mértéket ért el, ezért a növekvő igények kielégítésében a vízi szervezetek tenyésztése, az akvakultúra egyre nagyobb szerephez jut. Vannak régiók, ahol az akvakultúra-termelés szinte kizárólag a csontoshalak tenyésztésére korlátozódik. A tervezhető haltenyésztés egyik alapkritériuma a biztonságos állománypótlás (Müller és mtsai, 2020), melynek alapja a halfajokra kidolgozott biztonságos szaporítási technológia. Ebben a munkában a magyar kutatók és gyakorlati szakemberek jelentős, nemzetközileg is elismert szerepet játszottak/játszanak.

Dolgozatunk első részében igyekszünk összefoglalni a halszaporítási kutatásokban elért azon eredményeket, amelyek részben vagy egészben beépültek a tógazdasági halszaporítási gyakorlatba és nemzetközileg is jelentős előrelépésnek minősülnek. Említést teszünk olyan kísérleti munkákról is, amelyek alapjául szolgáltak több jelenleg is folyó kutatási iránynak. Hangsúlyosabban a XIX. vége és XX. században elért eredmények kerülnek vázlatos bemutatásra.

Dolgozatunk második felében pedig bemutatásra kerül egy olyan új halszaporítás technológiai fejlesztés, amely az utóbbi években született és kimondottan a hazai kutatóintézetek és kutatócsoportok együttes munkájának a gyümölcse.

## I. A MAGYAR HALSZAPORÍTÁSSAL KAPCSOLATOS KUTATÁSI EREDMÉNYEK MÉRFÖLDKÖVEI

A XIX. század végéig a haltenyésztés tudományok fejlődését a kezdetekben a külföldi módszerek honosítása jellemezte. Ezeket a módszereket "bebiztosító" céllal alkalmazták, mert nem volt elég szakember (Tasnády, 1997). A korszak egyik kiemelkedő magyar (magyar származású) szakembere Dubisch (Dubics) Tamás volt, aki kifejlesztette a ponty (*Cyprinus carpio*) tenyésztési technikáját speciális ívótavakban, mely azóta is a nevét őrzi (Dubics-ívatótavak).

A süllő (*Sander lucioperca*) ikrát korábban a Schwarzenberger-féle wittingaui telepről szereztek be és hozták hazánkba, majd Magyarországon is megjelentek süllő ikráztatással és ikragyűjtéssel foglalkozó telepek (Ó-Verbász, Simontornya, Siófok, Iharos; Landgraf, 1899, 1901; Répássy, 1900) mely ikratermelése (50-120 millió ikra) meghaladta a hazai igényeket és már importra nyílt lehetőség. Purgli-Langráf kifejlesztettek egy új típusú süllőfészket, ami kimondottan természetesvízi süllőikra gyűjtést tette lehetővé a Balatonon (Landgraf, 1904), ami a balatoni süllőállomány megerősítésén túl egyéb természetesvízi telepítésekhez és tógazdasági süllőtermeléshez nyújtott alapot. Magyarországon a süllő ívási időben kifogott halak fejési és megtermékenyítési tapasztalatokról Woynarovich (1948) számolt be, ekkor a megtermékenyített ikratételeket még fészkekre terítették. Entz és Woynarovich (1948), Woynarovich és Entz (1950) Balatonból gyűjtött süllőfészkek inkubálására kidolgozták a permetkamrás - vízen kívüli - keltető rendszert. Ugyanerre az eszközre dolgozta ki Woynarovich (1954) a ponty mesterséges fészken történő szaporítását is, magába foglalva; a megtermékenyítésre érett

ivartermékek gyűjtési -, a termékenyítés és fészekrevitel -, valamint a pontyikra vízén kívüli (permetben történő) érlelési technikáját.

A természetes ívási időhöz kapcsolható halszaporítási kutatások nagymértékben függtek a mindenkori időjárástól. A biztonságot az épületekbe (keltetőházak) történő bevitel és az időzíthető szaporítás jelentette. A halszaporodás hormonális szabályozásának megismerése a kutatási- fejlesztési munkák fontos mérföldkővét jelentette. Az ismeretek gyakorlati alkalmazását elsőként *Von Ihering* (1937) brazil kutató kezdeményezte, hal hipofízis kivonattal eredményesen kezelt szaporodásra érett díszhalakat. A hipofizálásnak elnevezett hormonális szaporodás- idukciót üzemi körülmények között először Gerbilszkij és munkatársai alkalmazták tokfélék szaporítására (*Horváth és Urbányi*, 2000). Hazánkban az első sikeres kecsege szaporítás kecsege hipofízissel történt (*Jaczó*, 1953), majd az idézett szerző pontyhipofízis alkalmazásával sikerrel szaporított ponty ikrásokat is (*Jaczó*, 1954a,b; 1955) „ami talán első volt az egész világon” (cit. *Tasnádi*, 1997). A hipofizálás hatására bekövetkező hormonálisan ovuláció kiváltása a ponty fajnál a biztonságos ivadék-előállítás szempontjából önmagában még nem elégséges a szaporítás új alapokra helyezéséhez, hiszen ennél a rendkívül ragadós ikrával rendelkező halfajnál a legfontosabb kérdés az volt, hogyan lehet az ikrát az összecsomósodás veszélye nélkül a leghatékonyabb ikraérlelésre alkalmas vertikális ika inkubátorban, a Zuger-üvegben érlelni?

A külföldön szerzett tapasztalatok alapján a hazánkban először 1947-ben gyártottak csukaikra (*Esox lucius*) érleléséhez alkalmas Zuger-üvegeket (*Wovnarovich*, 1963, *Horváth és Urbányi*, 2000). *Woynarovich* (1960, 1961, 1962) dolgozta ki először a keszeg, majd a pontyikra ragadóságának elvételét és Zuger üveges keltetését (sós - karbamidos kezelés), amit később kiegészített egy tannin oldatos kezeléssel (*Woynarovich*, 1963; 1965). Ezt a komplex módszert pontyra a mai napig általánosan használják világszerte, és mint magyar módszer vonult be a szakmai köztudatba. Kádár Mihály dinnyési halászmester újítása volt az ikrás pontyok ivarnyílásának bevarrása, mellyel a korábbi, átlagosan kifejt 4-6 dl száraz ikramennyiség 1,5-2 literre emelkedett (*Antalfi és Tölg*, 1966).

A távolkeletről betelepített növényevő halak európai szaporítása során *Aliev* (1961) alkalmazta először az előadag-döntőadag megosztást. Magyar kutatók közül először *Antalfi* (1969), *Antalfi és Tölg* (1967, 1971) alkalmazták szintén növényevő halfajok (amur- *Ctenopharyngodon idella*, busa fajok – *Hypophthalmichthys spp.*) szaporításánál.

A szaporítási – és ivadéknevelési módszerek megszületésével párhuzamosan részüzemű, szakosodott gazdaságok létesültek (dinnyési Ivadéknevelő Tógazdaság – alapította Antalfi Antal – a százhalombattai Temperáltvízű Halszaporító Gazdaság – alapította Tölg István), illetve a teljes üzemű gazdaságok is nagy kapacitású halkeltetőket építettek saját ivadékgigényeik kielégítésére (*Horváth és Urbányi* 2000). Temperált Halszaporító Gazdaság (TEHAG) Százhalombattán alkalmas létesítmény volt az összes tógazdasági haszonhal szaporítására (*Tasnády*, 1979).

A harcsa (*Silurus glanis* L.) szaporítását magyar tógazdaságokban kezdték el és fejlesztették eredményes üzemi módszerré (*Maucha*, 1948), a harcsa tógazdasági tenyésztését a külföldi szakirodalom magyar sajátosságként említette (*Antalfi*, 1958; *Szalay*, 1963). A harcsát kis földmedencékben párosán ívatták és fészekre rakott

ikráját az anyától elkülönítve fakádakban, kis és nagy méretű keltető ládákban, ill. külön konstruált betonmedencékben keltették gyengén áramló vízben. A harcsa hagyományos, fészekre ívatásos szaporítási módszerével nem lehetett gazdaságosan, rövid időszak alatt olyan mennyiségű ivadékot előállítani, amely megfelelne egy speciális szaporító-ivadéknevelő gazdaság igényeinek. Ezért a harcsa szaporítását is intenzívvé kellett fejleszteni, hasonló szempontok szerint, mint más keltetőházban szaporított halfajoknál. A szaporítási módszer továbbfejlesztése során Horváth és H. Tamás (1976), Horváth (1977) kidolgozták az anyahalak keltetőházi tömeges tartását a szájnylás bevarrásával a marakodásból származó sérülések elkerülésére. Alkalmazták a korábban mások által leírt hipofízisátétel módszerét, megoldva annak káros következményét, mint az oltás helyének elfekélyesedése.

A szintetikus GnRH készítményekkel való halszaporítási munkák 1985 körül indultak meg (Woynarovich, 1989). Hazánkban először Horváth és mtsai (1986) sikeresen szaporítottak kecségét LH-RH hormon analóggal. Ezt követően egy hosszú kutatómunkát követően több szintetikus hormonhatású vegyületből álló készítményt fejlesztettek ki Ovopel néven, amely GnRH analóg, dopamin receptor antagonistá vegyület és a kiserelést megkönnyítő különböző összetételű vívívóanyag mixet tartalmaz, melyeknek tesztelését sokszoros ismétlésben, termelési körülmények között és félüzemi méretben is elvégezték a forgalomba hozatal előtt (pl. Horváth és H. Tamás, 1995; Horváth és Szabó, 1996; Horváth és mtsai, 1997). Ez a készítmény ma Európában egyike a kisszámú, engedélyezett halszaporítási készítményeknek.

A csuka első fél mesterséges szaporításának alapja a természetesvízi csukaállomány képezi, az ivarterméket ívóhelyen gyűjtik ívásban lévő szülőhalaktól (Veszprémi, 1955) és keltették Zuger üvegekben. Antalfi és Tölgy (1964), Antalfi (1969) már hormonálisan indukált szaporítási eredményeket közöltek. Horváth és Lévai (1980) leírták a csuka szaporítás keltetőházi technológiáját, melyet Szabó (1999) fejlesztett tovább, kimondottan a csuka szaporodás-élettani sajátosságait figyelembe vevő retard hatású vívívóanyagú hormonkezeléssel (implantátum kezelés).

A legértékesebb hazai ragadozó halfaj, a süllő mesterségesen nehezen szaporítható halfaj. A hormonálisan indukált szaporítás és az *in vitro* fertilizáció bevezetése a fajban kísérleti szinten Lévai (1979), üzemi méretben először Horváth és mtsai (2005) nevéhez fűződik. A módszert többen az elmúlt 15 évben továbbfejlesztették és fejlesztik napjainkban is.

Halbiotechnológia kutatásokban a magyar szakemberek az 1970-1990-es években élen jártak, több nemzetközileg is jelentős eredményt értek el. A hetvenes évek közepén az ELTE és TEHAG kezdeményezésére olyan ponty fajtajavítási program indult, amely a gynogenezis módszerében jelentős előrelépéssel zárult. Ez a program nagy nemzetközi tudományos elismerést aratott (Nagy és mtsai, 1978, Bercsényi, 1997). Fajok közötti androgenezist a világon elsőként először magyar kutatóknak sikerült létrehozniuk (Bercsényi és mtsai, 1995, 1998).

A magyar halszaporítással foglalkozó elméleti-, kísérleti- és üzemi kutatási és gyakorlati eredmények elősegítették több gazdaságilag jelentős halfaj, közöttük a ponty teljes vertikumú keltetőházi szaporítási protokolljainak összeállítását (Horváth és mtsai, 1984), melyek közérthető formában, színes ábrákkal több nyelven a FAO gondozásában jelentek meg (Woynarovich és Horváth, 1980; Horváth és mtsai, 1985a,b; 2015) segítve az édesvízi akvakultúra fejlődését a fejlődő világban.

## II. ÚJ HALSZAPORÍTÁSI MÓDSZER (SPERMA PETEFÉSZEK MOSÁS / INSZEMINÁCIÓ)

### *Élettani és technológiai háttér, módszer leírás*

Jelen ismereteink szerint a csontos halak (Osteichthyes) döntő többsége külső megtermékenyítésű. Ezeknek a fajoknak a spermiumai a herecsatornáknak, valamint az ondóvezetőben inaktív állapotban találhatók. Az édesvízi halfajok nagy többségénél a spermasejtek aktivációját a környező folyadék ozmolalitásának csökkenése váltja ki.

Korábbi megfigyelések szerint a ponty fajban (*Cyprinus carpio*) az izoozmotikus ovariális folyadék önmagában nem, vízzel hígítva azonban a spermiumokat nem csak aktiválta, hanem a motilitásukat hosszú ideig igen magas értéken tudta tartani (Horváth és mtsai, 2010). Ez alapján elgondolásunk az volt, hogy a szeminális folyadékban mozdulatlan spermiumsejtek a petefészek ozmocomform környezetében sem fognak aktiválódni, így hosszabb ideig képesek biológiai aktivitásukat megtartva életben maradni. Ovulációkor a follikuláris tokból kiszabaduló oociták felszínére feltapadnak a (még inaktív) spermiumsejtek, majd együtt ürülnek a genitális nyíláson keresztül a külvilágba. Vízzel érintkezve ezek a spermiumok aktiválódnak és képesek megtermékenyíteni a szintén aktiválódott petesejteket.

A fenti elgondolás alapján kidolgozott petefészek inszemináció módszere egyszerű; a programozott ívásra felkészített és bódított ikrások petefészek lebenyébe fecskendően rögzített szonda vagy katéter segítségével juttatjuk az előzőleg gyűjtött és minőségellenőrzésen átesett, egy-vagy több hím-től származó, kevert sperma adagot/adagokat. A katéter könnyen irányítható, lehetőség van a petevezetéseken keresztül célzottan a jobb vagy a bal petefészek lebenyt kezelni. Kisméretű halakban (pl. zebradánió: testméret 2-2,5 cm) a sperma befecskendezést automata pipettával vagy kapillárisal is meg lehet oldani.

### *Sperma életképességének/termékenyítőképességének megőrzése a petefészekben az idő és a spermamennyiség függvényében*

Afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) fajban végzett kísérletek alapján 5-36 órával az ovuláció előtt a petefészekbe jutatott spermiumok még megtartják termékenyítőképességüket. 48 óra elteltével a termékenyülési és kelési értékek már nagymértékben visszaesnek (Müller és mtsai, 2020). Farkassügérben (*Dicentrarchus labrax*) a petefészek lebenyekből visszanyert sperma életképessége hasonlóan 40 óra körüli, ezt követően jelentős mértékben lecsökken, illetve megszűnik a spermasejtek vízaktivációt követő mozgóképessége (Bodur és mtsai, 2019). Érdekes, hogy a két faj környezeti igényeiben meglévő jelentős különbségek (Siluriformes - Perciformes, édesvíz - tengervíz, 25-27 °C - 16 °C) ellenére is hasonló eredmények tapasztalhatók. Pontyban és egy dél-amerikai harcsafajban (*Rhamdia quelen*) a keltetőházi gyakorlatnak megfelelő döntő hormonkezeléssel egy időben (10-12 órával az ovulációt megelőzően) feljuttatott spermiumok sikeresen termékenyítették az ikratételeket (Müller és mtsai, 2018 a, Ittész és mtsai, 2020).

Az első kísérletsorozatokat alkalmával halfajtól függetlenül 2 ml sperma/testtö-

meg kg mennyiséggel végeztük a szaporítási munkákat, amelyet kezdetben egy- (Müller és mtsai, 2018a), majd két petefészeklebenybe egyenletesen osztottunk el (Müller és mtsai, 2018b, 2019, 2020). A szakirodalomban fellelhető spermium:ikra arányok alapján azonban ez jelentős "sperma pazarlás" volt. Afrikai harcsában vizsgáltuk petefészekbe fecskendezett, különböző mennyiségű spermaadagok hatását a termékenyítésre. A tesztek alapján nem volt különbség az elért termékenyítési- és kelési eredményekben a petefészek lebenybe jutatott 2 ml, 1 ml és 0,5 ml sperma/testtömeg kg kezelések között. A keltetőházi, *in vitro* termékenyítési gyakorlat szerint a kívánt sperma:víz:ikratömeg arány; 1:10:100. 0,5 ml sperma/testtömeg kg kezelés esetén 10% lefejt ikratömeg/testtömeg kg számolva ez az arány 1:10:200, ami a termékenyülés valószínűségének szempontjából kedvezőbb arány, mint az üzemi javaslat.

### *Sperma szeminális plazma, mint hormonvivő anyag*

Watson és mtsai (2009), valamint Németh és mtsai (2012) kísérleteiben a petefészekbe juttatott hormonhatású anyagok (hCG oldat és pontyhipofízis szuszpenzió) ovulációt eredményeztek, tehát a fiziológiás NaCl oldat, mint hormon vivőanyag felszívódott a petefészekfalán keresztül és a hormonokat a szisztémás keringésbe juttatta. Felmerül annak a lehetősége, hogy a sperma szeminális folyadék hasonló módon viselkedhet, hatékony hormon vivőanyag lehet. Afrikai harcsa és *Rh. quelen* fajokban porított ponty hipofízist elkevertünk frissen fejt spermával és ezt a mixet injektáltuk az ikrások petefészek lebenyeibe. Mindkét fajban a szeminális plazma felszívódásával a GtH hormon is átjutott a petefészek szisztémás keringésébe és indukálta az oociták végső beérését 10-11 óra alatt. Ezalatt a spermiumsejtek sem károsodtak és vízaktivációt követően termékenyíteni tudták az ovulált ikraszemeket nagy hatékonysággal (termékenyülési arány: 41-94%, Müller és mtsai, 2018b, Ittész és mtsai, 2020). Ezzel a módszerrel a hormonkezelést és a sperma bejuttatást egy időben, egy kezeléssel meg lehet oldani.

### *Sikeres utódlétrehozás ívás vagy ívatásos módszer alkalmazása során, hím jelenléte nélkül*

Hormonindukált szaporítási eljárás esetében ponty és afrikai harcsa fajokban megfigyeltük, hogy szaporítás előtt az ikrások petefészek lebenyébe feljutatott sperma termékenyítette a spontán elszórt ikratételeket (Müller és mtsai, 2018a,b). Zebradánió (*Danio rerio*) fajban hormonkezelés nélkül, csak sperma injektálást követő fényprogram alkalmazásával sikerült spontán ikraszórára bírni az ikrásokat (parciális ovuláció következett be, hagyományos ívatáshoz képest 60-75%-al kevesebb ikra ovulált) tejesek jelenléte nélkül. Az ikrákból sikerrel lehetett lárvákat keltetni. A kísérleti eredményeink egy alapvető halszaporítási tétel átgondolását teszik szükségessé, nevezetesen, hogy a valódi külső megtermékenyítésű hal-fajok esetében indukált íváskor/ívatáskor mindkét nem jelenlétére szükség van utódok létrehozására. Kísérleteinkben az ikrások petefészkébe injektált és ott tárolt sperma feltétlenül szükséges, de egyidejűleg ívó tejes jelenléte már nem feltétel a sikeres utódlétrehozáshoz, amennyiben (akár részleges, vagy teljes) ovulációra lehet bírni az ikrásokat (Gazsi és mtsai, 2019a).



### *Az utódok genetikai sokszínűségének növelésének lehetősége*

Feltételeztük, hogy a párban és csoportosan ívó halak utódainak a genetikai bázisát is jelentősen kiszélesíthetjük, ha a termékenyítésben több tejestől származó spermium vesz részt; a petefészekbe feljuttatott „idegen” sperma, valamint az ívásban résztvevő tejesből származó sperma együttesen járul hozzá az utódgeneráció kialakításához. Vizsgálatunk célja volt megállapítani, hogy a petefészek lebenybe feljuttatott sperma milyen termékenyülési/kelési arányban vesz részt ívatásos módszer esetén az ívásban résztvevő tejes(ek) spermájával szemben. Zebradánió modell halfaj két változatával dolgoztunk; egy vad (AB), és egy transzgénikus vonallal (Tg shha:GFP), melyek utódai mikroszkóp segítségével jól elkülöníthetők egymástól. A programozott (fényritmussal szabályozott) ívás előtt transzgénikus tejesekből származó spermaadagokat juttattunk fel automata pipetta és üveg kapilláris segítségével az előzőleg bódított vad ikrások petefészkébe. A sikeresen ívó pároknál az utódelőzőzés eredménye alapján a transzgénikus spermából származó lárvák aránya ikrásonként 0 - 81,3% között mozgott, az átlag: 36,1% volt. Kísérleteink alapján a genetikai változatosság valóban növelhető sperma feljuttatással (indukált) ívatásos szaporítás esetében. A módszert optimalizálni szükséges (irányított spermafeljuttatás csak az egyik petefészek lebenybe, sperma:ikra arány beállítása, stb., *Gazsi és mtsai*, 2019b).

### *Mélyhűtött sperma felhasználása sperma injektálásos módszer esetén (mélyhűtött sperma felhasználása indukált ívatás esetén)*

A spermamélyhűtés, több, mint 70 éves múltra tekint vissza (*Polge és mtsai*, 1949). Gyakorlati felhasználását korlátozza, hogy jelenleg a jellegéből adódóan valódi külső megtermékenyítésű halfajok esetében csak *in vitro* termékenyítési módszerrel lehet sikeresen használni. Ez a sajátosság az ivarsejtek mélyhűtésének fiziológiai jellegéből adódik. A spermiumok mélyhűtése során el kell kerülni az intracelluláris kristályképződést, amit fagyásvédő adalékokkal akadályoznak meg. A leggyakrabban alkalmazott védőanyagok, mint például a metanol, DMSO, szobahőmérsékleten toxikusak (elősegítik a celluláris dehidratációt, destabilizálják a membránokat és fehérjéket), így a spermát felolvasztást követően rövid időn belül fel kell használni, valamint termékenyítést követően lehetőleg el kell távolítani a fölösleget (kihígítás). Amennyiben a felolvasztott spermamintákból (sperma, hígító és védőanyag elegye) ki lehetne vonni a toxikus védőanyagot, úgy lehetőségünk nyílna ívatásos módszer esetében is alkalmazni a módszert, megtartva a spermamélyhűtés előnyeit (génmegőrzés, nagy genetikai értékű hímek irányított keresztezése stb.). Kísérletünkben afrikai harcsa spermát fagyasztottunk le egy már korábban leírt protokoll alapján (*Kovács és mtsai*, 2010). Felolvasztás után a műszalmából származó mintákat Eppendorf-csövekbe gyűjtöttük és centrifugáltuk. A szeminális plazmában lévő hígítót és metanol védőanyagot eltávolítottuk a kicentrifugált sejtpogácsa (centrifugálás után az Eppendorf alján összegyűlt spermiumtömeg) felszínéről. A spermiumokat nem hagytuk kiszáradni, hanem natív pontyspermából származó szeminális folyadékkal töltöttük fel. Az így nyert

elegyet (afrikai harcsa sperma + ponty szeminális folyadék) injektáltuk be afrikai harcsa ikrásokba hormonkezelésükkel egyidejűleg (intramuszkuláris kezelés – ponty hipofízis kivonat). Tízórás beérési időt követően az ikrásokat lefejtük és termékenyítési tesztek végeztünk. A spermainjektált halak mindegyikében sikerült termékenyülést kimutatni, azonban a kelési százalék (18%) elmarad a kezeletlen kontroll csoport értékeitől (61%). Ez a modellkísérlet szolgálhat alapul ahhoz, hogy ívatásos módszer esetén is lehessen alkalmazni mélyhűtött spermát (Müller és mtsai, 2019).

### *Az új halszaporítási módszer alkalmazásának lehetőségei*

Az új módszer előnyeit elsősorban a faj és fajtamentés, hibridképzés, tudományos kutatás céljára végzett szaporítások, valamint az ívásos/ívatásos módszer esetében látjuk. Hazánkban az ilyen jellegű szaporítások jelentősége kisebb, azonban az édesvízi akvakultúra össztermelésben az ázsiai pontyfélék termelése igen jelentős, az amur, pettyes busa, fehér busa (és hibridjeik) és a ponty együttes termelése 17,8 millió tonna, melyből csak Kína részesedése 80% (Cao és mtsai, 2015). Kínában és más ázsiai országokban még mindig a tradicionális ívatásos módszerrel szaporítanak a legnagyobb mennyiségben. Ez azt jelenti, hogy ívató tavakban, medencékben, ketrecekben, úgynevezett hapákban, és köralakú beton-medencékben hormonálisan indukcióval, de természetes úton hagyják szaporodni a halakat (Horváth és mtsai, 2015). A tengeri halak szaporításában szintén elterjedt módszer (pl. farkassügér, aranydurbincs, stb.). Szaporításuk ívatáson alapul, ahol az anyahalak felkészítését kizárólag környezeti tényezők befolyásolásával (vízhőmérséklet, fényprogram mesterséges szabályozása) végzik. Az ívás vagy spontán módon következik be, vagy hormonkezeléssel segítik elő. A lebegő, termékenyített ikraszemek begyűjtését az ívató medence elfolyó vizére telepített különböző ikrafogó berendezésekkel oldják meg. Mivel az ívató medencében az ikrások több tejjel is összeívhathnak így irányított keresztezés (szűkebb értelemben vett tenyésztés) ezidáig korlátozott mértékben valósulhatott meg. Az általunk kifejlesztett módszerrel azonban ezekben az esetekben az ivararány megfordításával (2 ikrás és egy tejes), egységnyi területről több termékeny ikra gyűjthető, irányított keresztezések hajthatók végre ívató medencékben, a tömeges halszaporítást a tervszerű tenyésztés alapjai válthatják fel. Nagy genetikai értékű tejesek spermájával több ikrás ikratételét is lehet termékenyíteni egy időben. Párban ívó halaknál a genetikai sokszínűséget is növelni lehet ezzel a módszerrel (ívás vagy ívatás előtt 5-10 tejesből származó spermaminta feljuttatása), amit gazdaságilag jelentős halfajoknál (pl. harcsa, süllő) vagy természetvédelmileg jelentős halfajoknál (pl. lápi póc) is alkalmazni lehet. Megoldható a sperma manipulálása (például mélyhűtött sperma alkalmazása) indukált ívatásos módszernél. Az új módszer keltetőházi szaporítási technológiába is beilleszthető, egységnyi területről nagyobb mennyiségű termékenyült ikramennyiséget lehet egyidejűleg előállítani, hiszen spermainjektálás esetén nincs szükség tejesek tartására kádakat fenntartani. Bízunk abban, hogy a gyakorlatba hamarosan átültethetővé válik ez az újszerű szaporítási módszer és széles körben használhatóvá válik.



## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munkát az Európai Halászati Alap, Halászati Operatív Program III. tengelye („Európai Halászati Alap: a megújuló halászatért” - az Európai Unió és Magyarország támogatásával), a MAHOP-2.1.1-2016-2017-00002 (RESEARCHFISH), valamint a HOP 3 COLL 1 (ref. szám: 1699279607 és ref. szám: 1699329032) támogatásával végeztük. Továbbá köszönjük az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008, a GINOP 2.3.2-15-2016-00025 („GOODFISH”) projektek támogatását, amit az Európai Regionális és Fejlesztési Alap, valamint Magyarország Kormánya nyújtott.

## IRODALOMJEGYZÉK

- Aliev, D.C. (1961): Experiments of breeding from Far Eastern vegetarian fish in the conditions of Turkmenia (in Russian), Voprosi Ichtiologii. Abstract from Voprosi Ichtiologii Vol I.
- Antalfi, A. (1958): Hogyan tenyészünk harcsát? Halászat, 5. 95.
- Antalfi, A. (1960): Előneveljük a harcsaivadékok! Halászat, 7. 10-11.
- Antalfi, A. (1969): Növényevő anyahalak. Halászat, 15/62. 186-187.
- Antalfi, A. (1969): Gondolatok a csuka- és pontyszapórtásról. Halászat, 15/62. 189.
- Antalfi, A. – Tölgy, I. (1964): Csuka a tógazdaságban. Halászat, 10/57. 12.
- Antalfi, A. – Tölgy, I. (1966): Pontyszapórtás 1966-ban. Halászat, 12/59. 112-113.
- Antalfi, A. – Tölgy, I. (1967): A növényevő halak első hazai szaporítása. Halászat, 13/60. 116.
- Bercsényi, M. (1997): A tulajdonságok öröklődése 53-59. In Szalay, F. Halgazdálkodás II. Magyar országos Horgász Szövetség, Budapest, 553.
- Bercsényi, M. – Magyar, I. – Urbányi B. – Orbán, L. – Horváth, L. (1998): Hatching out goldfish from common carp eggs: interspecific androgenesis between two cyprinid species. Genome, 41. 573–579.
- Bercsényi, M. – Amirinia, C. – Yousefian, M. – Urbányi, B. (1995): Módszer kihalófélben lévő halfajok restaurálására spermamélyhűtés és androgenézis alkalmazásával. Halászatfejlesztés, 18. 6-15.
- Bodur, T. – Szabó, T. – Sevgili, T. – Aydın, I. – Kurtoğlu, A. – İnanan, B. E. – Kanyılmaz, M. – Kocakaya, S. – Gökçek, K. – Urbányi, B. – Müller, T. (2019): Tengeri süllő (*Dicentrarchus labrax*) szaporítási kísérletek Törökországban. XLIII. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas, május 29. abstract book pp: 56-57.
- Cao, L. – Naylor, R. – Henriksson, P. – Leadbitter, D. – Metian, M. – Troell, M. – Zhang, W. (2015): China's aquaculture and the world's wild fisheries, Science, 347. 133-135.
- Entz, B. – Woynarovich, E. (1948): Zanderzucht. Experimentelle Beiträge zur Biologie der Jungzander (*Lucioperca sandra* Cuv. und Val.). Arch. Biol. Hung., 2. 34–51.
- Gazsi, Gy. – Berta, I. R. – Ivánovics, B. – Ruffili, L. – Szabó, T. – Urbányi, B. – Horváth, L. – Müller, T. (2019a): Külső megtermékenyítésű zebradánio (*Danio rerio*) ivatása teljes jelenléte nélkül. XLIII. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas, 2019. május 29. abstract book 92-93.
- Gazsi, Gy. – Ivánovics, B. – Berta, I. R. – Szabó, T. – Zarski, D. – Urbányi, B. – Horváth, L. – Kucska, B. – Müller, F. – Müller, T. (2019b): A novel fish induced spawning method for ex situ and in situ conservation of valuable population by using sperm injection into ovary. LXI. 61th Georgikon Napok International Scientific Conference, Keszthely, 3.-4. October, 2019. abstract book 35.
- H. Tamás, G. – Csorbai, B. – Kovács, É. – Németh, I. – Horváth, L. (2006): A süllő (*Sander lucioperca*) szaporítási technológiájának továbbfejlesztése. Halászat, 99. 157-169.
- Horváth, L. – Csorbai, B. – Szabó, K. – H. Tamás, G. (2005): Újabb tapasztalatok az indukált süllőszaporítás terén. Halászatfejlesztés, 30. 41-53.
- Horváth, Á. – Páramo, S. M. – Kovács, Á. I. – Urbányi, B. – Paz, H. (2010): A ponty (*Cyprinus carpio* Linnaeus) ovariális folyadékának hatása a friss és mélyhűtött pontysperma motilitására. Állattani Közlemények, 95. 25–33.

- Horváth, L. - H. Tamás, G. (1976): A harcsa (*Silurus vulgaris* L.) szaporítás és az ivadékelőnevelés módszerének továbbfejlesztése. Halászat, 22/69. Tudományos melléklet, 11-13.
- Horváth, L. - Peteri, A. - Kouril, J. (1986): Successful sterlet, *Acipenser ruthenus* L., propagation with synthetic LH-RH hormone. Aquacult. Fish. Manage., 17. 113-116.
- Horváth, L. - Szabó, T. (1996): GnRH hatóanyagú készítménnyel (ovopel) végzett kísérletek eredményei 1995-ben. Halászat, 89. 11-14.
- Horváth, L. - Szabó, T. - Burke, J. (1997): Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation four cyprinid species. Polish Arch. Hydrobiol., 44. 219-224.
- Horváth, L. (1977): Improvement of the method for propagation, larval and post larval rearing of the Wels (*Silurus glanis* L.). Aquaculture, 10. 161-167.
- Horváth, L. - Tamás, G. - Coche, A. G. - Kovács, E. - Moth-Poulsen, T. - Woynárovich, A. (2015): Training manual on the artificial propagation of carps. A handout for on-farm training workshops on artificial propagation of common carp and Chinese major carps in Central and Eastern Europe, the Caucasus and Central Asia. Second revised edition. Budapest, FAO REU. 31.
- Horváth, L. - Tamás, G. - Coche, A. G. (1985a): Common carp, part 1: mass production of eggs and early fry. FAO Training Series No. 8, 87. Rome
- Horváth, L. - Tamás, G. - Coche, A. G. (1985a): Common carp 2: Mass production of advanced fry and fingerlings in ponds. FAO Training Series. No. 9. Rome,
- Horváth, L. - Tamás, G. - Tölg, I. (1984): Special method in pond fish husbandry. Budapest, Akadémia Kiadó; Seattle, Halver Corporation. 147.
- Horváth, L. - Tamás, G. (1995): Egyszerű gyakorlati eljárás halaink szaporítására a hipofízis hagyományos használatára nélkül. Halászat, 88. 29-30.
- Horváth, L. - Urbányi, B. (2000): A haltenyésztés története, hazai történet. In: Halbiológia és Haltenyésztés, Szerk. Horváth L., Mezőgazda Kiadó, Budapest, 218-222.
- Ittész, I. - Kronbauer, E. C. - Szabó, T. - Horváth, L. - Urbányi, B. - Müller, T. (2020): Propagation of jundia *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) by applying the ovarian sperm injection method. Aquacult. Rep., 16. 100275.
- Jaczó, I. (1953): Kísérletek a kecsege mesterséges szaporítására a Dunán. Hidrológiai közlöny, 3-4, 149-152.
- Jaczó, I. (1954a): Hipofizáljuk a halakat? Halászat, 1. 7.
- Jaczó, I. (1954b): Miért hipofizáljuk a halakat? Halászat, 1. 12.
- Jaczó, I. (1955): A pontyok hipofizálása. Halászat, 2. 126-127.
- Kovács, É. - Müller, T. - Márián, T. - Krasznai, Z. - Urbányi, B. - Horváth, Á. (2010): Quality of cryopreserved African catfish sperm following post-thaw storage. J. Appl. Ichthyol., 26. 737-741.
- Landgraf, J. (1899): Süllőikra és tenyészrákok kiosztása. Halászat, 1. 54.
- Landgraf, J. (1904): A süllőikra-gyűjtés módja. Halászat, 5. 155-156.
- Lévai, F. - Horváth L. (1980). A csuka mesterséges szaporításának továbbfejlesztése. Halászat, 26/73. 4-5.
- Lévai, F. (1979): Gondolatok a süllőtenyésztés fejlesztéséről. Halászat, 25/72. 77-78.
- Maucha, R. (1948). Harcsatenyésztési kísérleteink eddigi eredményeiről. Halászat, 2/47. 113-114.
- Müller, T. - Ács, É. - Beliczky, G. - Makk, J. - Földi, A. - Kucska, B. - Horváth, L. - Ittész, Á. - Hegyi, Á. - Szabó, T. - Urbányi, B. - Nguyen, N. G. - Orbán, L. - Havasi, M. (2020): New observations about fertilization capacity and latency time of sperm inseminated into ovary in African catfish (*Clarias gariepinus*) as an oviparous model fish. Aquaculture, 522. 735109
- Müller, T. - Horváth, L. - Szabó, T. - Ittész, I. - Bognár, A. - Faidt, P. - Ittész, Á. - Urbányi, B. - Kucska, B. (2018): Novel method for induced propagation of fish: sperm injection in oviducts and ovary / ovarian lavage with sperm. Aquaculture, 482. 124-129.
- Müller, T. - Kucska, B. - Horváth, L. - Ittész, Á. - Urbányi, B. - Blake, C. - Gutí, Cs. - Csorbai, B. - Kovács, B. - Szabó, T. (2018): Successful, induced propagation of African catfish (*Clarias gariepinus*) by ovarian lavage with sperm and hormone mixture. Aquaculture, 485. 197-200.

- Müller, T. - Szabó, T. - Kollár, T. - Csorbai, B. - Marinović, Z. - Horváth, L. - Kucska, B. - Bodnár, Á. - Urbányi, B. - Horváth, Á. (2019): Artificial insemination of African catfish (*Clarias gariepinus*) using cryopreserved sperm. *Theriogenology*, 123. 145-150.
- Müller, T. - Urbányi, B. - Horváth, L. (2020). Áttekintés az indukált halszaporításban alkalmazott hormonbejuttatási módszerekről. *Halászat*, 113. 69-76.
- Nagy, A. - Rajki, K. - Horváth, L. - Csányi, V. (1978): Investigation on carp, *Cyprinus carpio*, gynogenesis. *J. Fish. Biol.*, 13. 215-224.
- Németh, Á. - Orbán, K. - Faidt, P. - Horváth, Á. - Müller, T. - Szathmári, L. - Urbányi, B. - Horváth, L. (2012): Induction of ovulation in the pikeperch (*Sander lucioperca* L.) by ovarian lavage. *J. Appl. Ichthyol.*, 28. 914-915.
- Polge, C. - Smith, A. U. - Parkes, A. S. (1949): Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature*, 164. 666.
- Répássy, M. (1900): A simontornyai süllő-telep. *Halászat*. 2. 163-164.
- Szabó, T. (1999): A keltetőházi csukaszaporítás hatékonyságának növelése. *Halászat*, 92. 151-154.
- Szalay, M. (1963): Új módszer a harcsaivadék mesterséges szaporítására. *Halászat*, 9/56. 95.
- Tasnády, B. (1997): A magyar halgazdálkodás története 504-518. In *Halgazdálkodás II.* Szerk. Szalay A., Magyar országos Horgász Szövetség, Budapest, 553.
- Veszprémi, B. (1955): A csuka mesterséges szaporításáról. *Halászat*, 2. 62.
- Von Ihering, R. (1937): A method for inducing fish to spawn. *The Progress. Fish-Cult.*, 4. 15-16.
- Watson, C. - Hill, J. E. - Graves, J. S. - Amy, L. - Wood, A. - Kilgore, K. H. (2009): Use of a novel induced spawning technique for the first reported captive spawning of *Tetraodon nigroviridis*. *Mar. Genomics*, 2. 143-146.
- Woynárovich, E. (1954): A ponty mesterséges szaporítása. *Magyar Tudományos Akadémia Agrár-tudományi Osztályának Közleményei*, 3. 227-242.
- Woynárovich, E. - Entz, G. (1950): Experiments in the artificial incubation of *Lucioperca sandra* Cuv. et Val. eggs. *Annal. Inst. Biolog (Tihany) Hung. Acad. Sci.*, 19. 65-68.
- Woynárovich, E. (1948): Süllőikra mesterséges megtermékenyítése. *Halászat*, 2/47. 106-107.
- Woynárovich, E. (1960a): Pontyikra érlelés Zuger-üvegben. *Halászat*, 7. 135.
- Woynárovich, E. (1960b): Ausreifen von Karpfenleichen in Zuger-Gläsern *Deutsche Fischerei Zeitung*, 7. 278-282.
- Woynárovich, E. (1961): Hatching of carp eggs in Zuger-glasses and breeding of carp larva until an age of 10 days. *Bamidgah, Bull. of Fish Cult. in Israel*, 4. 38-46.
- Woynárovich, E. (1962): A pontyikra Zuger-üveges érlelése és az ivadék nevelése 10 napos korig. *Halászat*, 8/55. 14-15.
- Woynárovich, E. (1963): Végre fellendült a csuka mesterséges szaporítása. *Halászat*, 9/56. 58-59.
- Woynárovich, E. (1965): A ponty mesterséges szaporításának továbbfejlesztése. *Halászat*, 11/58. 51.
- Woynárovich, E. (1989): A gonadoliberin analógok szerepe a gyakorlati halszaporításban. *Halászat*, 35/82. 29-31.

Érkezett: 2020. július

Szerzők címe: Müller T. - Szabó T. - Horváth L. - Horváth Á. - Gazsi Gy. - Ittész I. - Urbányi B.  
Szent István Egyetem, Gödöllői Campus  
Halgazdálkodási Tanszék

Authors' address: Szent István University, Gödöllő Campus  
Department of Aquaculture  
H-2100 Gödöllő, Páter Károly u. 1.  
muller.tamas@szie.hu

*Kucska B.*

Szent István Egyetem, Kaposvári Campus  
Aquakultúra Intézeti Tanszék  
Szent István University, Kaposvár Campus  
Aquaculture Department  
H-7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

*Havasi M.*

Szent István Egyetem, Keszthelyi Campus  
Állattudományi Tanszék  
Szent István University, Keszthely Campus  
Department of Animal Sciences  
H-8360 Keszthely, Deák F. u. 16.